HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Chemotaxis and phototaxis of gametes in brown algae having two heterogeneous flagella [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	寺内, 菜々
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第12674号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65307
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Nana_Terauchi_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士（環境科学）　　氏 名 寺内 菜々

学 位 論 文 題 名

Chemotaxis and phototaxis of gametes in brown algae having two heterogeneous flagella
（2本の異質鞭毛を有する褐藻配偶子の走化性と走光性）

褐藻は海洋沿岸域における主要な一次生産者であり、工業材料、食品等の水産的価値に加えて、他生物の餌や餌場、生育場所、沿岸水域の浄化など生態系の維持にも大きな役割を果たしている。褐藻は基質に着底して生育しているが、生活環の一部で配偶子や遊走子といった遊泳細胞を放出する。これら遊泳性の生殖細胞は、配偶体世代と胞子体世代の掛け橋となり、分布域の拡大、好適な環境への着底、雌雄配偶子の受精などの目的のもと、様々な外的環境シグナルを利用し遊泳する。褐藻の刺激受容反応として最もよく知られているのは、雌性配偶子（卵）から放出された性フェロモンに対する雄性配偶子（精子）の反応（走化性）と光刺激に対する遊泳細胞の反応（走光性）である。これらの刺激に対する反応は、褐藻の遊泳細胞が有する異質な不等長2本鞭毛、すなわち進行方向前方に伸びる前鞭毛と後方に伸びる後鞭毛の運動によって生じる。主に、前鞭毛は推進力を担っており、後鞭毛は遊泳方向の舵取りの役割があると考えられている。褐藻は沿岸海洋生態系の基盤を担っていることから、生殖細胞の鞭毛による走性は、藻場の分布拡大等にとっての重要因子となる。本研究は、褐藻配偶子の上記2つの刺激に対する反応において、2本の鞭毛の運動変化はそれぞれどのように生じるのかについて高速ビデオを用いた定量解析から明らかにした。さらに、走光性における配偶子の生理学的メカニズムについても考察を進めた。

異なる有性生殖様式間で、雌雄配偶子が誘引・認識・融合する機構を比較解析することは、有性生殖様式の多様化・適応進化について考察するために必要不可欠である。しかし、性フェロモンに対する雄性配偶子（精子）の走化性についての多くの研究は、動物の精子（卵生殖）について行われてきた。そこで、単一の系統群に3種類の有性生殖様式（同型・異型配偶子接合、卵生殖）が存在する褐藻を材料とすることで、異なる有性生殖様式間での上記の機構に関して比較解析を可能とした。同型・異型配偶子接合を行う実験材料としてシオミドロとムチモ、卵生殖を行う材料としてマコンブとヒバマタを用いた。

本研究では、最初に明暗条件・温度条件・培養液等の条件を調整することで、雌雄配偶体から適切な量の雌雄配偶子を適切なタイミングで放出させる方法を確立した。これを用いて配偶子の鞭毛波形と遊泳軌跡について高速ビデオ装置を用いた観察から定量化を行い、（1）同型・異型配偶子接合では雄性配偶子の前鞭毛に推進力があるが、卵生殖では後鞭毛にも推進力があること、（2）雄性配偶子が性フェロモンを感知すると、同型・異型配偶子接合では直線的な遊泳軌跡から小さな円を描く軌跡に変化すること、(3)性フェロモンを感知すると、同型・異型配偶子接合のみで雄性配偶子の前鞭毛の波形が大きく変化することを明らかにし

た。これらの違いは、同型・異型配偶子接合と卵生殖の間の有性生殖を確実に成功させるための適応戦略の違いによるものと推察された。また、すべての有性生殖様式で共通する現象として、(1) 性フェロモンを感知すると前鞭毛の振動数が低下すること、(2) 性フェロモンに対し、前後鞭毛の運動は独立して反応すること、(3) 性フェロモンの濃度減少に反応し、後鞭毛は片側に大きく屈曲して遊泳方向を変化させることが明らかになった。特に (3) の反応は、系統的に大きく異なるウニやホヤなどの海産動物の精子でも報告されていることから、褐藻と海産動物の走化性において鞭毛運動制御機構は類似していると推察された。

前後2本の鞭毛形態が大きく異なる褐藻配偶子が光刺激に対してどのような反応を示すのかは、未解明な点が多い。特に、光方向に向かって遊泳する反応（正の走光性）と、光と反対方向に向かって遊泳する反応（負の走光性）のバランスは、遊走子や配偶子が着底し発生するための好適環境に移動するには欠かせない要因であるが、これらがどのような機構によって制御されているのかは不明である。そこで、ムチモ雄性配偶子を用いて、正負の走光性に関わる因子を探索し、培地中のCa^{2+}濃度と雌性配偶子から放出される性フェロモンが走光性の正負の転換に関与していることを明らかにした。ムチモの雄性配偶子は15℃長日条件では正の走光性を示すが、培地中のCa^{2+}濃度を減少させると（10^{-4} M以下）、走光性は正から負に変化するようになった。また、一度Ca^{2+}濃度を減少させ負の走光性を示すようになった配偶子でも、Ca^{2+}濃度をもとの濃度に戻すと正の走光性を示すことから、正から負への変換はCa^{2+}濃度によって制御される可逆的な変化であることが予想された。Ca^{2+}濃度をさらに下げると、走光性を示さない個体が増加した。このなかには、鞭毛運動を停止している個体も確認された。Ca^{2+}チャネルの阻害剤である$LaCl_3$を用いると走光性は正から負へ変化した。阻害剤の濃度を上げると走光性を示さない個体が増加し、鞭毛運動を停止する配偶子も確認された。走光性において光受容後の配偶子の遊泳方向転換では、正負ともに後鞭毛を片側に大きく屈曲した。その屈曲方向は同じであったが、屈曲するタイミングが異なっていた。以上の結果から、ムチモ雄性配偶子の走光性には、La^{3+}によって阻害されるCa^{2+}チャンネルを通した細胞外から細胞内へのCa^{2+}流入が必要であることが明らかになった。また、細胞内に流入するCa^{2+}濃度の違いは、後鞭毛の屈曲のタイミングと関係しており、これが正負の走光性を決定することが予想された。後鞭毛の運動という観点で見ると、光と性フェロモンに対する雄性配偶子の反応は類似していた。このことから、褐藻配偶子は異なる外的環境シグナルに対して、それぞれの受容体に関しては不明であるが、類似した反応経路を利用している可能性が示唆された。

性フェロモン存在下で一方向から光をあてると、一部のムチモ雄性配偶子は正から負の走光性を示した。ただし、全ての雄性配偶子が正から負の走光性に変化しないことから、個々の雄性配偶子で性フェロモンの感受性は異なっている可能性が考えられた。この反応は、性フェロモンが揮発することで消失、あるいは不活性化することにより、負から正の走光性に戻ることも明らかになった。一般的に、褐藻の有性生殖（特に同型・異型配偶子接合）は、基質に着底した雌性配偶子が性フェロモンを放出し、運動性のある雄性配偶子が誘引されることから始まる。つまり、性フェロモンを放出している雌性配偶子は走光性によって光源とは反対方向に位置すると予測されるため、雄性配偶子が性フェロモンを感知することで、正から負の走光性を示すのは受精効率を高めるための戦略と考えられる。この結果から、褐藻の雄性配偶子は光、または性フェロモンに対して、一部共通したシグナル伝達経路を利用する可能性が強く示唆された。